



سبقت علمی

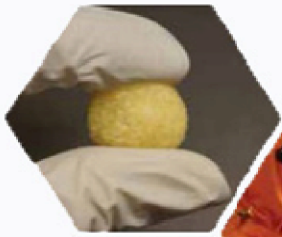


ORGAN REGENERATION

ORGAN REGENERATION

Presented by: Azin Elmi
Under supervision : Dr. Ahmadpour

Contents



• Introduction	<u>3</u>
• History	<u>4</u>
• Repair versus Regeneration	<u>6</u>
• Principles of Tissue Engineering	<u>8</u>
Cell sources	<u>10</u>
Scaffold	<u>13</u>
Signaling pathway	<u>22</u>
• Ethical Aspects	<u>24</u>
• Companies	<u>25</u>
• Joint Cartilage regeneration	<u>27</u>
• Ligaments Regeneration	<u>36</u>
• Conclusion	<u>43</u>
• References	<u>44</u>

Introduction

در آمریکا بیش از ۱۰۰۰۰۰ نفر در انتظار پیوند عضو هستند که روزانه بیش از ۱۸ نفر از آنان می میرند .

✓ سالم بودن اعضا

✓ مطابقت نزدیک ژنتیکی دهنده و گیرنده عضو

✓ احتمال رد پیوند توسط سیستم ایمنی بیمار

راه حل جدید در حال ظهور، تکوین در محیط آزمایشگاه است که در آن

اعضای مصنوعی زیستی از سلول های خود بیمار رشد پیدا می کند [۱]

History



❖ معرفی در میانه ی دهه ۸۰ توسط Langer و Vacanti

❖ هدف: تولید یک جایگزین در درمان های فردی بیماران با باز ساخت،

بازآرایی و توان رشد [۲]

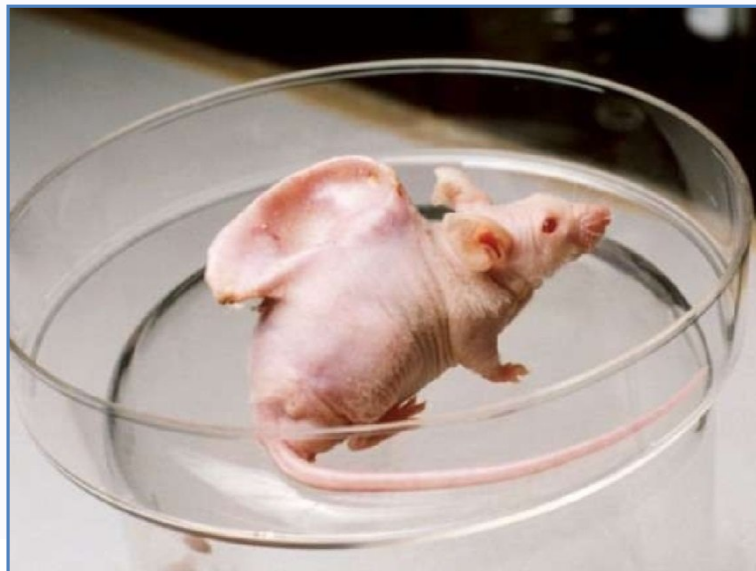
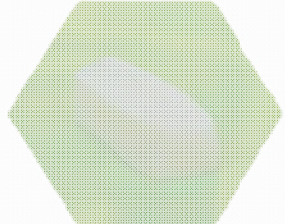
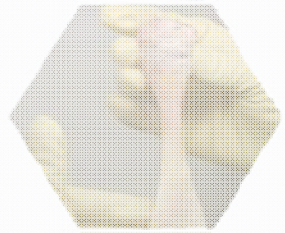
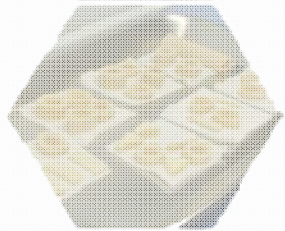
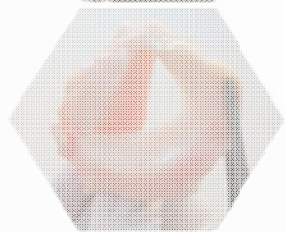
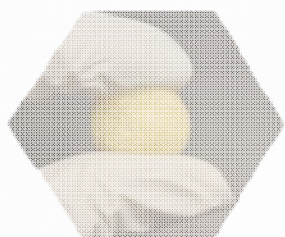


Image source: http://en.wikipedia.org/wiki/Vacanti_mouse



امروزه مهندسی بافت یکی از رویکردهای بزرگ در درمان های بازساختی
وزمینه های بزرگ تحقیقات است.

کاربردهای کلینیکی مهندسی بافت:

☐ تولید **پوست** مصنوعی برای بیماران سوختگی

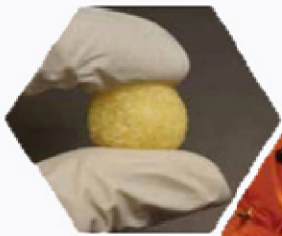
☐ **تراشه** تولیدی توسط مهندسی بافت

☐ **غضروف** برای فرایند تعویض زانو

☐ جایگزینی **مثانه**

☐ جایگزینی **میزراه** (مجرای ادرار) [۳]

Repair versus Regeneration



ترمیم : سازگاری قسمت از دست رفته و احیای پیوستگی قطع شده بافت با

ساخت بافت زخم (اسکار) بدون احیا بافت های نرمال



بازساخت : احیا پیوستگی قطع شده بافت با ساخت قسمت از دست رفته در

جایگاه آناتومیکی اصلی .



در یک عضو آسیب دیده بافتها و غشای پایه بطور خودبخودی مجدد تولید

می شود اما در مورد بافت بنیادی اینگونه نیست [۴،۵]



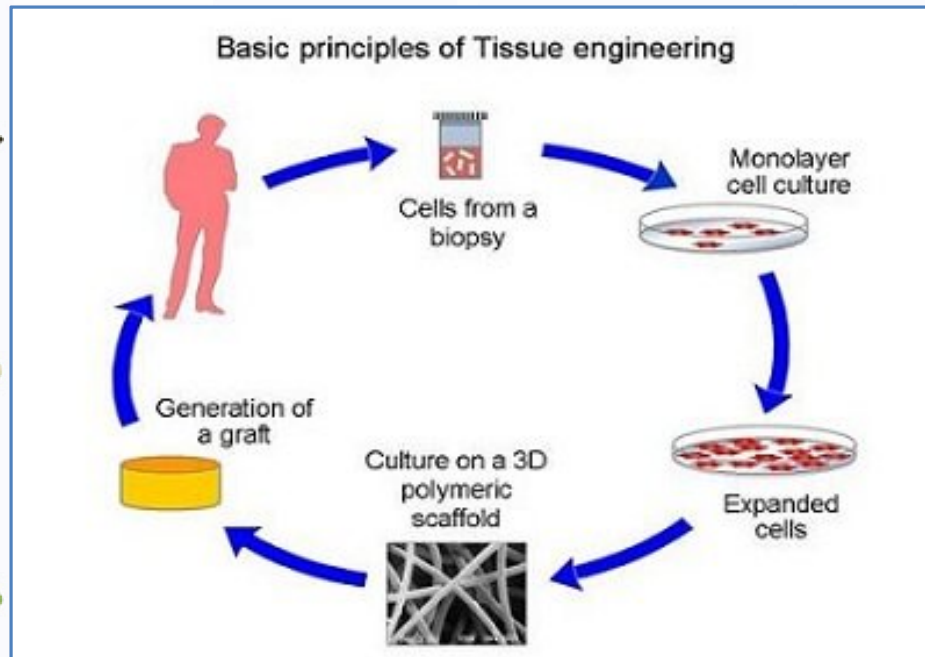
Repair Versus Regeneration



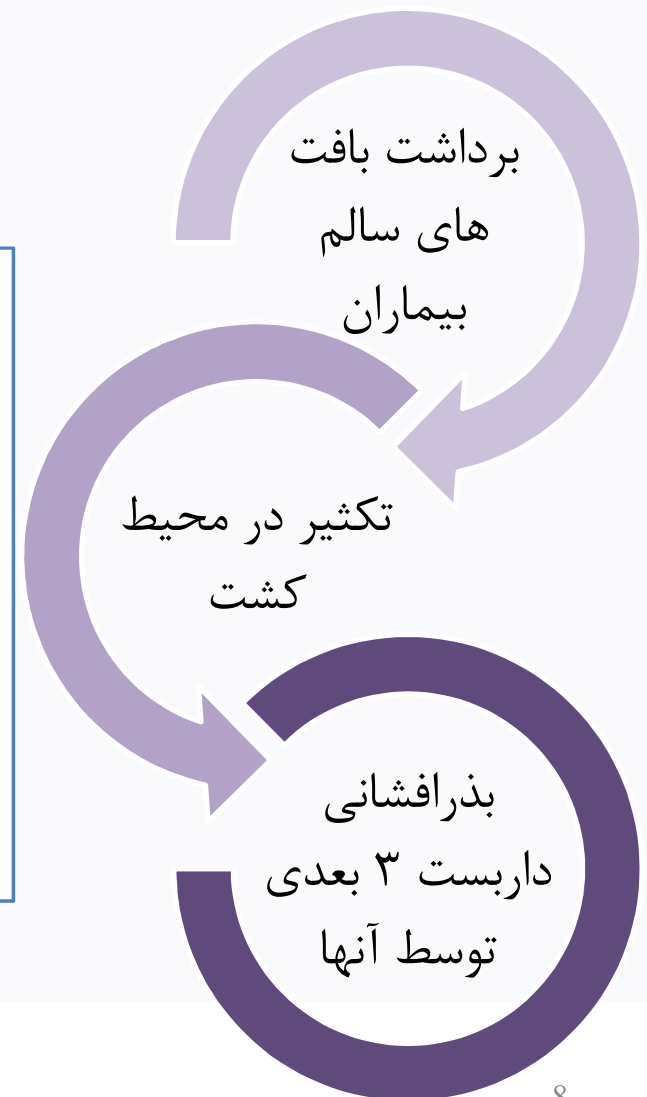
Image source: <http://www.scarformula.com/hypertrophic-scars.php>

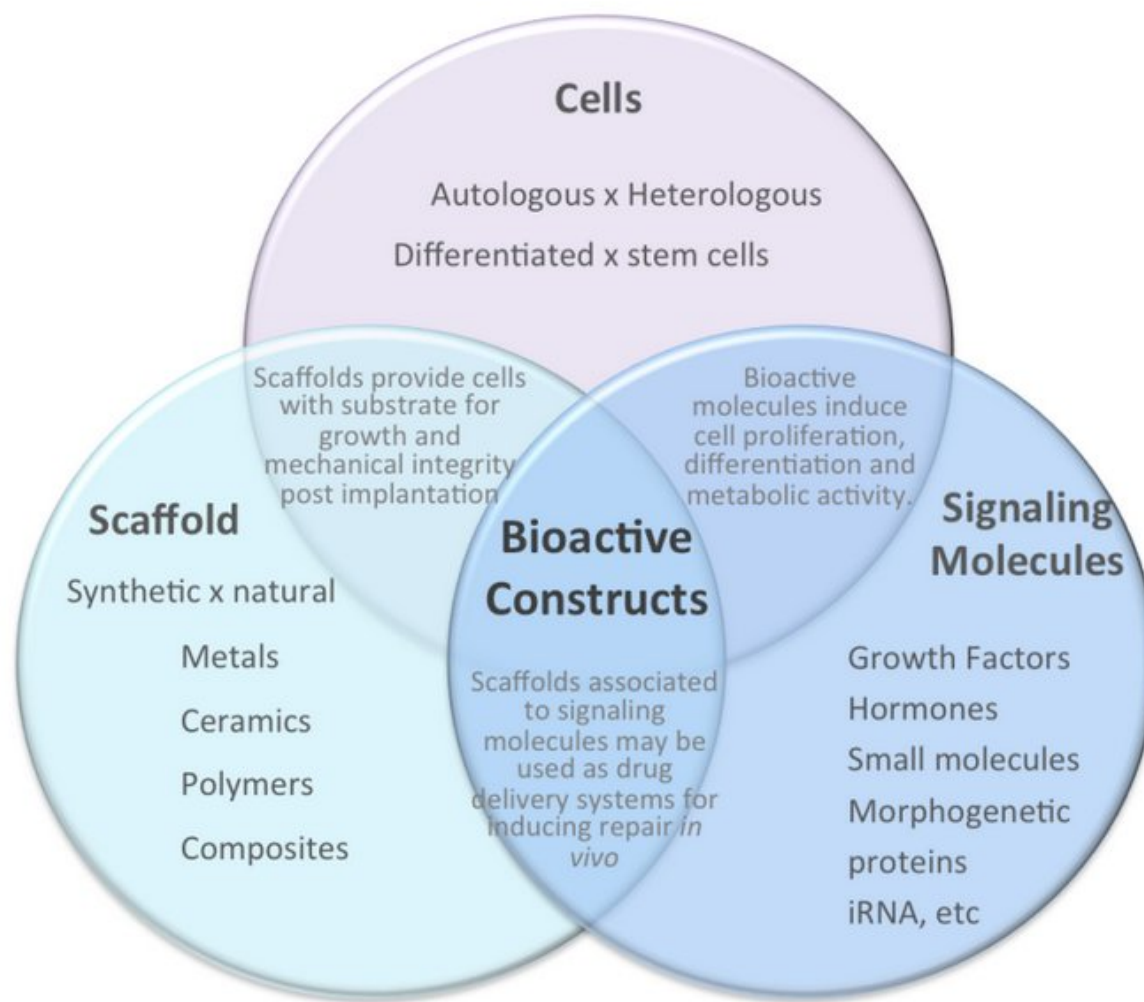
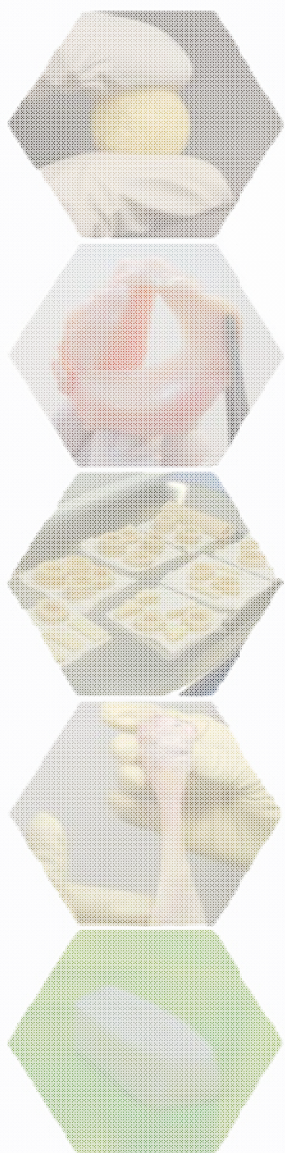


Principles of Tissue Engineering



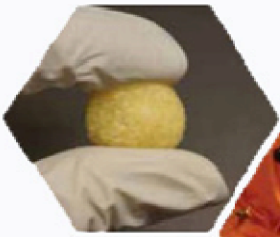
(۲)





Juliana Lott Carvalho, Pablo Herthel de Carvalho, Dawidson Assis Gomes and Alfredo Miranda de Goes (2013). Innovative Strategies for Tissue Engineering, Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications, Prof. Rosario Pignatello (Ed.), ISBN: 978-953-51-1051-4

Cell sources



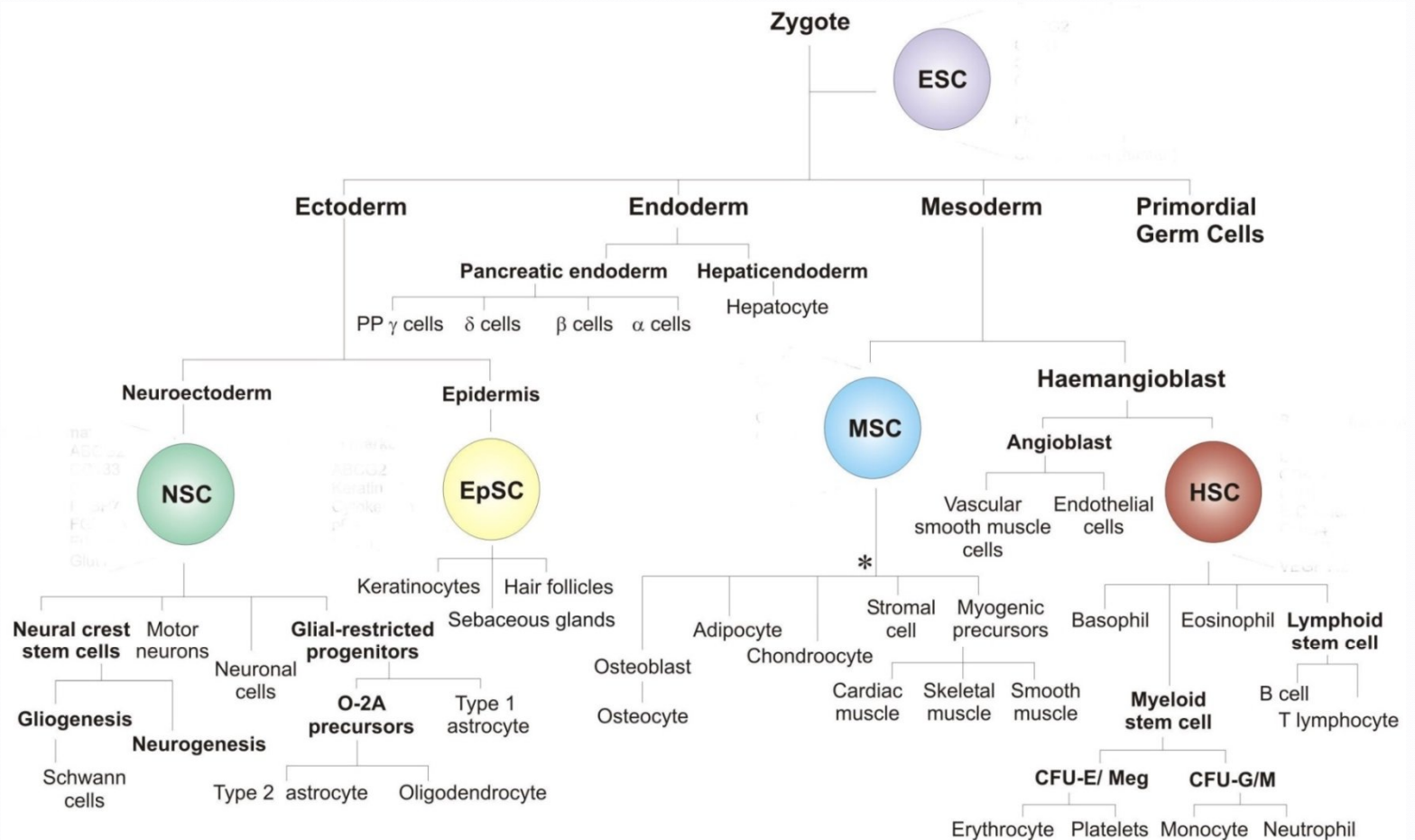
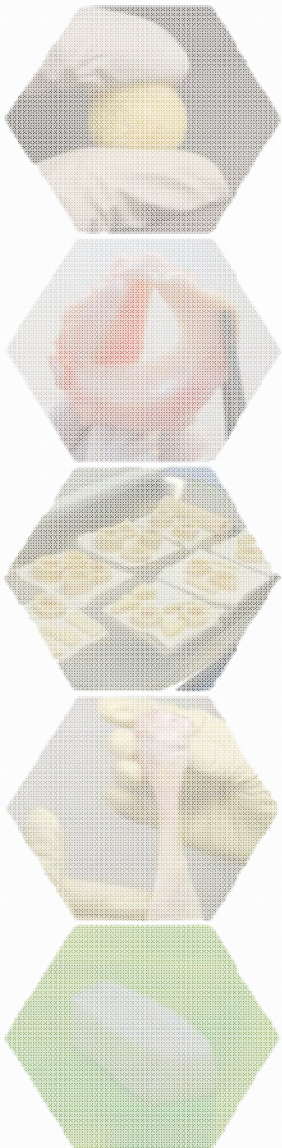
قسمت مهم در این رویکرد استفاده از سلول برای بذرافشانی داربست است که منابع آن از ۲ جهت بررسی می شود:

differentiated or stem cells

Autologous or Heterologous

منابع متعدد سلول های بنیادی با درجات متفاوتی از ظرفیت و اختصاصیت دودمان شامل: سلولهای بنیادی جنینی، سلول های بنیادی بالغ و سلول های

IPS [۶]



Development of stem cells within the body. This is not a comprehensive diagram, for clarity only selected stem cells are shown . ESC = embryonic stem cell, NSC = neuronal stem cell, EpSC = epidermal stem cell, MSC = mesenchymal stem cell, HSC = haematopoietic stem cell. *Differentiation of MSCs along neuronal lineages has also been demonstrated, see text for information. Modified from R&D Systems website (<http://www.rndsystems.com>). Copyright BTR©

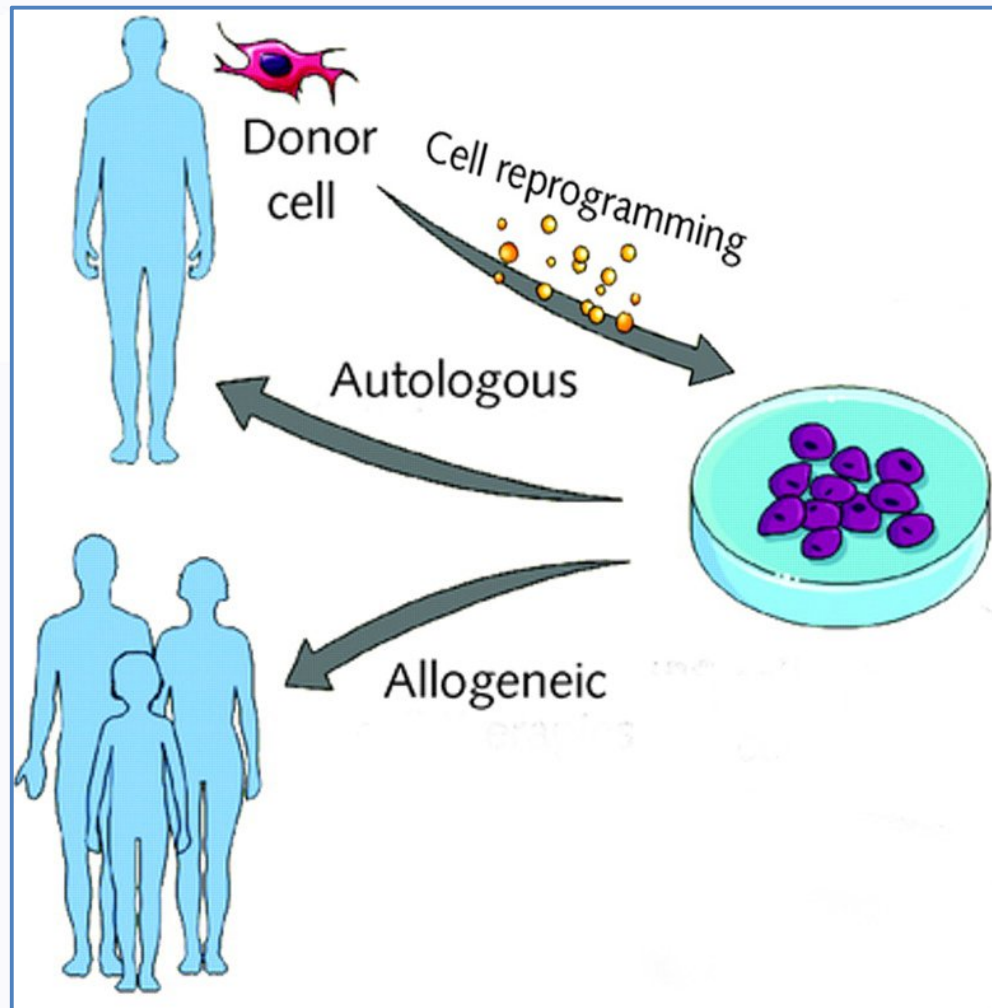


Image source:Power C, Rasko JE. Will cell reprogramming resolve the embryonic stem cell controversy? A narrative review. *Annals of internal medicine*. 2011;155(2):114-21.

(داربست) Scaffold

تولید محیط سه بعدی در حمایت از رشد سلول ها ، کنترل تقسیم سلولی ، بهبود رسوب ماتریکس و تولید مجدد بافت

زیست سازگار

زیست تجزیه پذیر

با ویژگیهای شبه زیستی

داربستی که پایه مهندسی بافت می شود یک ماده :

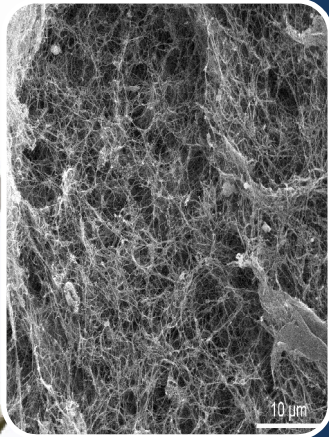
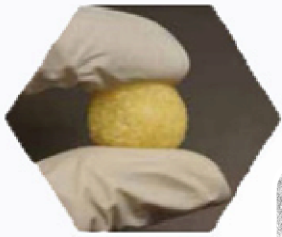
عوامل موثر بر رفتار سلول های بنیادی :

(۱) تغییر فیزیکی ابعاد شبه زیستی داربست

(۲) توازن ترکیب، مشخصات مکانیکی و شیمیایی سطح

Scaffold requirements	The purpose of this feature
Biocompatible	Avoids immunorejection (a cytotoxic response could kill the cells)
Biodegradable	To degrade at the same rate at which neotissue forms to avoid the need for surgical removal
Enable cell adherence	To allow cells attachment for growth and proliferation to occur
Provide sufficient surface area/ volume	To provide sufficient space for cell spreading and growth
Possess comparable strength/ stiffness	To withstand cyclic mechanical loading forces with magnitudes and strains similar to those found in vivo
Surgical implantation	Ease of fixing/bonding to bone (bio-active)

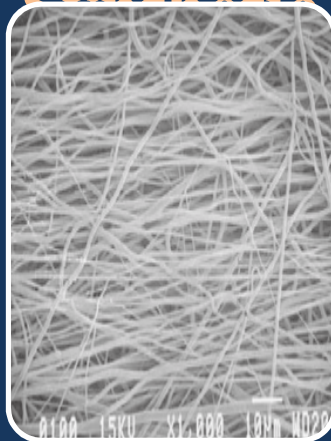
The main requirements of a scaffold with respect to their application



Natural

- Collagen
- Fibrin
- Chitosan
- Hyaluronic acid (glycosaminglycans)

Synthetic



Polylactic acid (PLA)

Poliglycolic acid (PGA)

Polycaprolactone (PCL)

Scaffold Fabrication Methods



❖ electro spinning

(ریسندگی الکتریکی)

❖ 3D-printing

(پرینت سه بعدی)

❖ solvent casting

(ریخته گری حلال)

❖ gas foaming

(جوشیدن گاز)

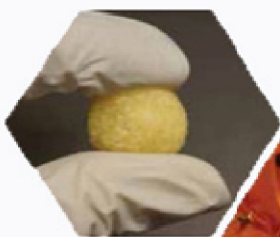
❖ phase separation

(جداسازی فاز)

❖ Decellularized Organs

(سلول زدایی اعضا)

(ریشندگی الکتریکی) electro spinning



❖ یکی از محبوب ترین روش ها برای تولید داربست

❖ توانایی تنظیم قطر ریسمان ها(فیبرها) در هر نقطه از محدوده ی میکرومتر یا نانومتر

❖ روشی آسان و ساده و نتایج توپوگرافی مشابه به ماتریکس خارج سلولی (ECM)

❖ استفاده به طور گسترده در ساخت بافتهای لوله ای شکل مثل بافت عروقی یا پیشابراه و سایر بافتها

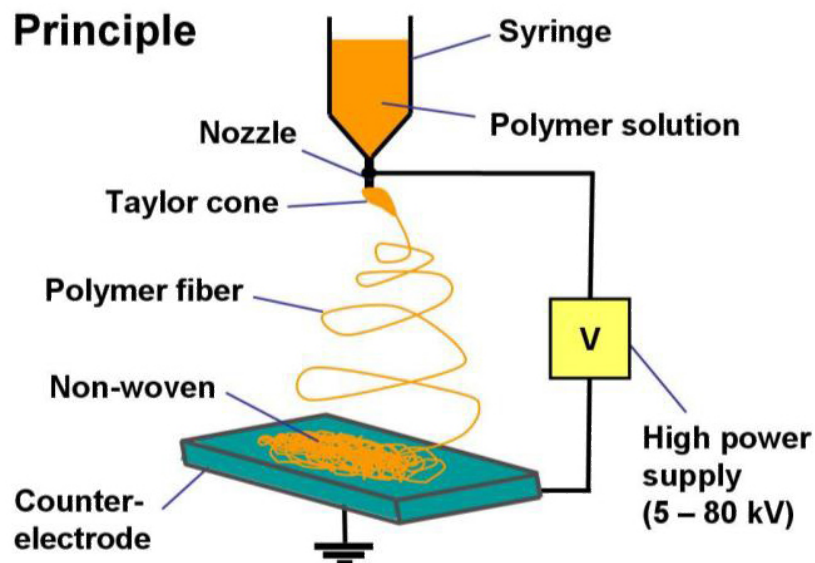
وارد شدن یک ولتاژ بالا (5-80 kV) به لوله های
موین پر شده با محلول پلیمر

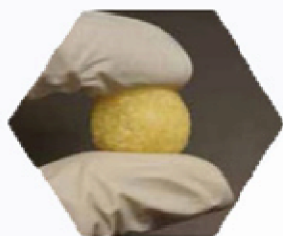
باردار شدن پلیمر توسط میدان الکتریکی

هنگام شدت گرفتن میدان، ریخته شدن محلول
پلیمری بر روی collector با بار مخالف

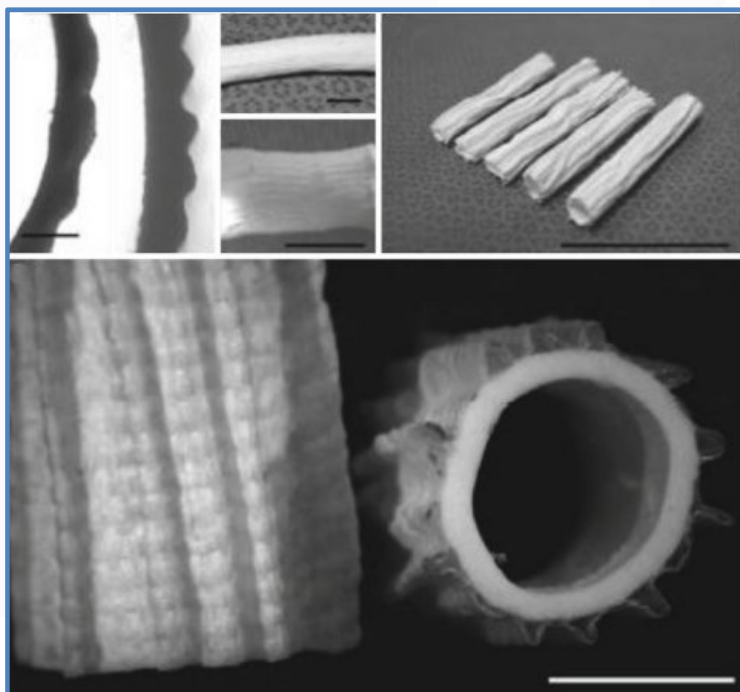
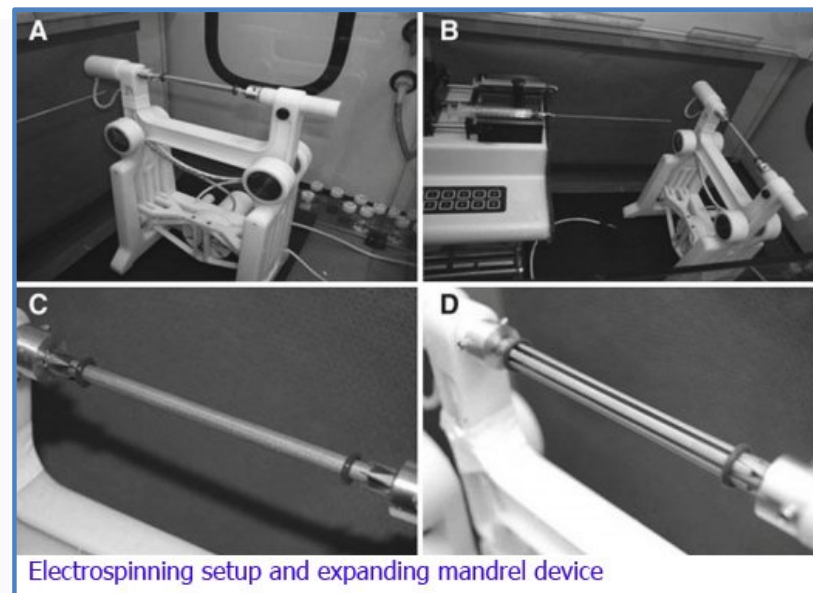
پس از تبخیر حلال ؛ سفت شدن پلیمر
به شکل یک شبکه درهم پیچیده

Principle

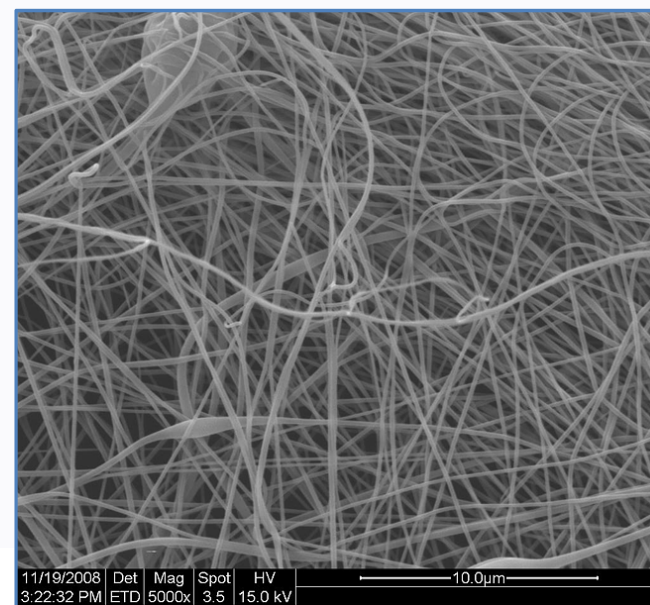




[A]



Representative prototypes of tubular scaffolds strain-induced invaginations



(پرینت ۳ بعدی) 3D-Printing

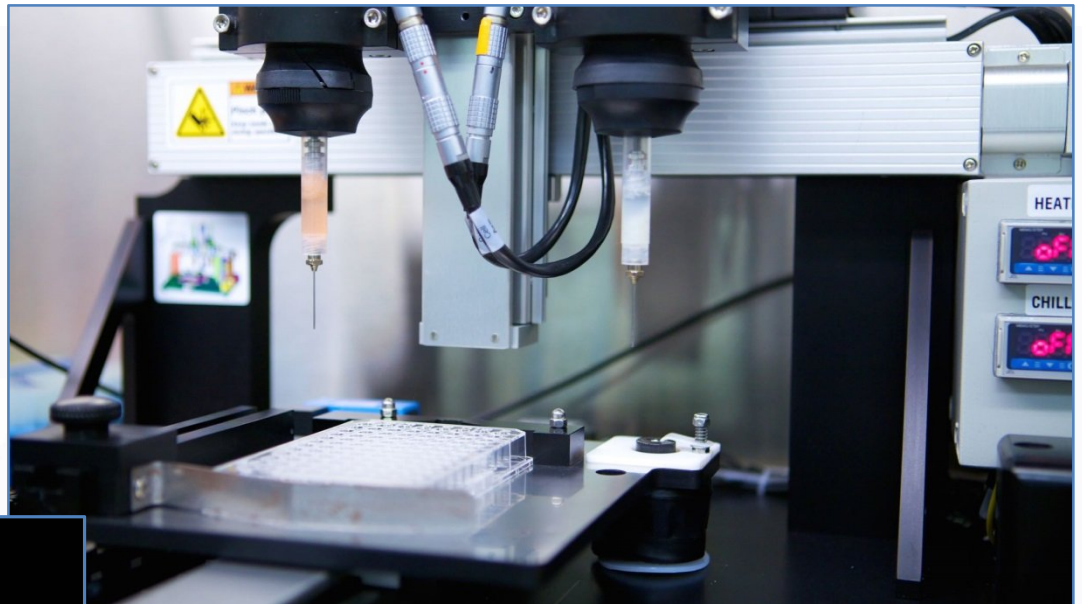
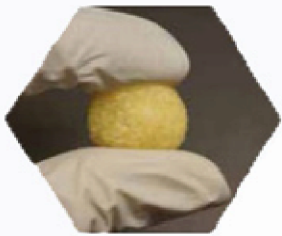
❖ طراحی در برنامه کامپیوتری (CAD) و استفاده از پرینتر سه بعدی

❖ به علت ساخته شدن لایه به لایه ساختارها شناخته شدن با نام "تولید افزودنی" (additive manufacturing)

❖ نسبتاً سریع و ارزان . کاهش هزینه ایجاد یک کپی از یک طراحی خاص
داربست و توانایی طراحی داربست در طول یک روز

❖ مشکل: نیاز به داربست دیگری برای این داربست و همچنین محدود

شدن این روش توسط تعداد ماده های زیستی در دسترس [۸]



Signaling pathway

❖ مسیرهای JAK/STAT , EGFR , Hippo/YAP , Wnt/beta catenin

❖ فعال شدن در مسیرهای تمایزی اغلب با قدرت بالا تر تحت تنظیم توسط

مسیرهای پیام دهی پاسخ دهنده

❖ حائز اهمیت بودن مهارکننده های رشد برای ختم بازساخت به جهت

جلوگیری از رشد نامحدود و همچنین از دست دادن ظرفیت احیا کننده

در اندام

قواعد ۴ گانه



قاعده اول: تمایز بین بافت هایی که توان بازساخت خود به خودی را دارند و آنهایی که این توان را ندارند

قاعده دوم: انتخاب ۲ واکنش دهنده که برای فرآیند نیاز است

قاعده سوم: تشخیص تغییرات اساسی روند ترمیم زخم که پیش از بازساخت باید شناخته شود

قاعده چهارم: شناخت ویژگی ساختاری که برای فعالیت بازساخت لازم است اندازه منافذ /میزان تجزیه / شیمی سطح [۵]

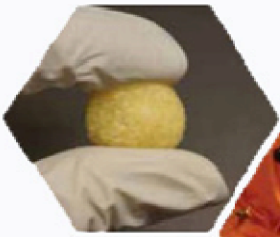
Ethical Aspects Of Tissue Engineering

TEN ETHICAL ISSUES MOST FREQUENTLY MENTIONED

<i>Ethical issue</i>	<i>Number of papers^a</i>
Use of hESCs	140
Therapeutic cloning	43
Donation: altruism vs. transfer of property rights	16
Use of xenogeneic cells/tissue	14
Informed consent of cell donor	11
Privacy of cell donor	9
Contribution of TE to life extension	9
Ethical aspects of clinical trials	8
Private banking of umbilical cord blood	8
Use of fetal cells	8

^aTotal number of selected papers: 203. Papers referring to more than one issue are grouped under each of these issues.

Companies



- **Harvard Apparatus Regenerative Technology**

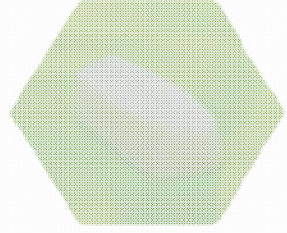
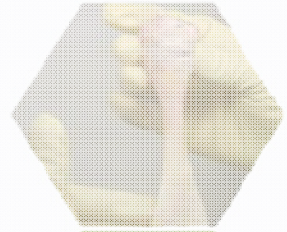
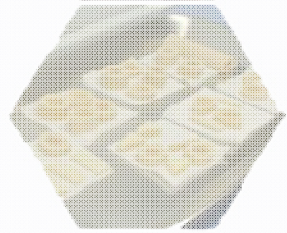
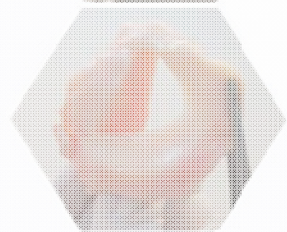
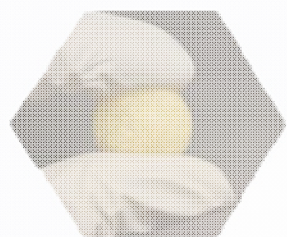
a clinical-stage regenerative medicine company focused on developing life-saving medical devices.

<http://www.harvardapparatusregen.com/>

- **Tissue Regeneration Systems**

Private US company, founded in 2008. The company “fabricate skeletal reconstruction implants”

<http://tissuesys.com/> [10]

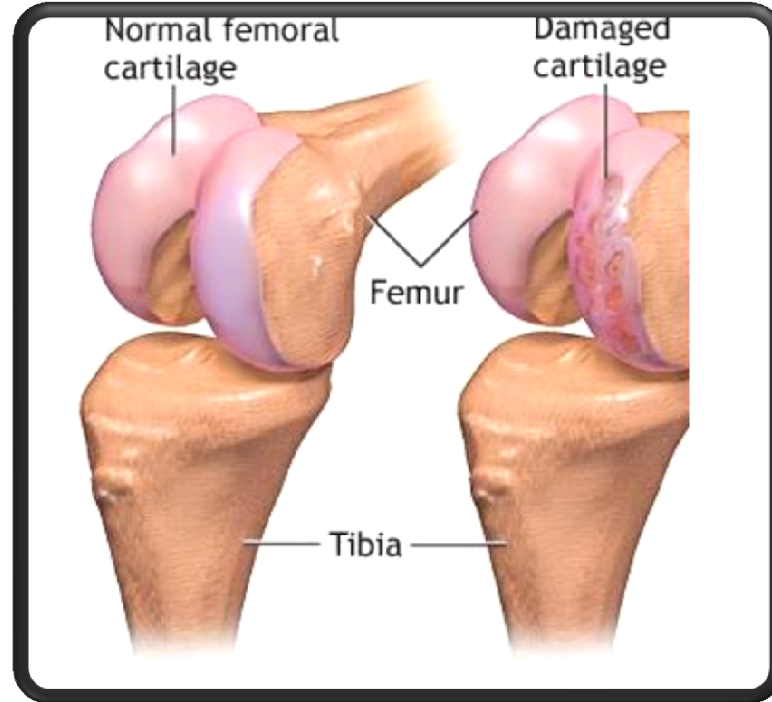


<http://www.trcir.com/>

• شرکت همانندساز بافت کیش

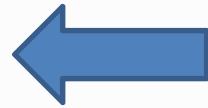
Products	
CenoBone	CenoTendon
AmniPatch	CenoValve
CenoDerm	CenoCartilage

Joint Cartilage Regeneration



وقوع آسیب غضروف مفصلی در نتیجه یک تخریب مکانیکی

دشواری قابلیت



عدم وجود رگ های خونی در غضروف مفصلی

توانبخشی

درمان آسیب های موضعی غضروف انسان در حال حاضر :

□ Arthroplasty Abrasion با یا بدون microfracture غضروف زیر زانو

□ implantation اتولوگ کندروسیت یا سلول های بنیادی مزانشیمی (MSC)

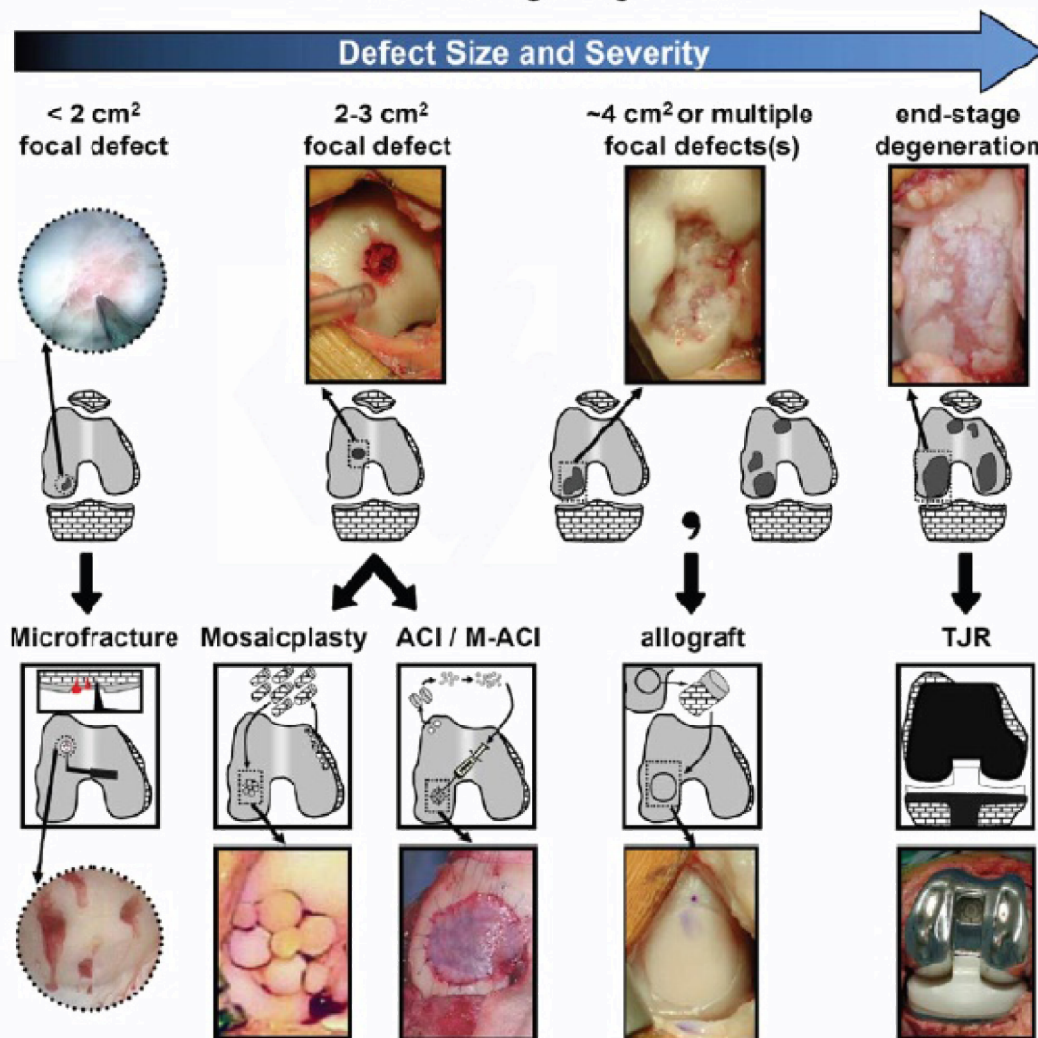
□ پیوند استخوانی غضروبی در مشکلات شدید و طولانی

□ جابگزینی کل مفصل با یک ایمپلنت مصنوعی برای درمان تخریب مفصلی

منتشر



Current Treatment Paradigms for Articular Cartilage Degeneration

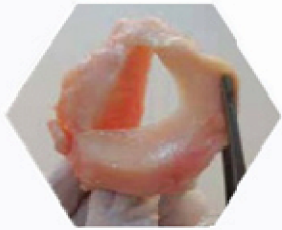
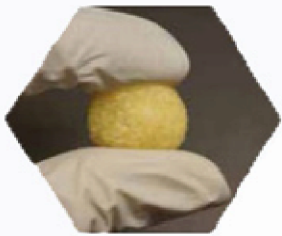


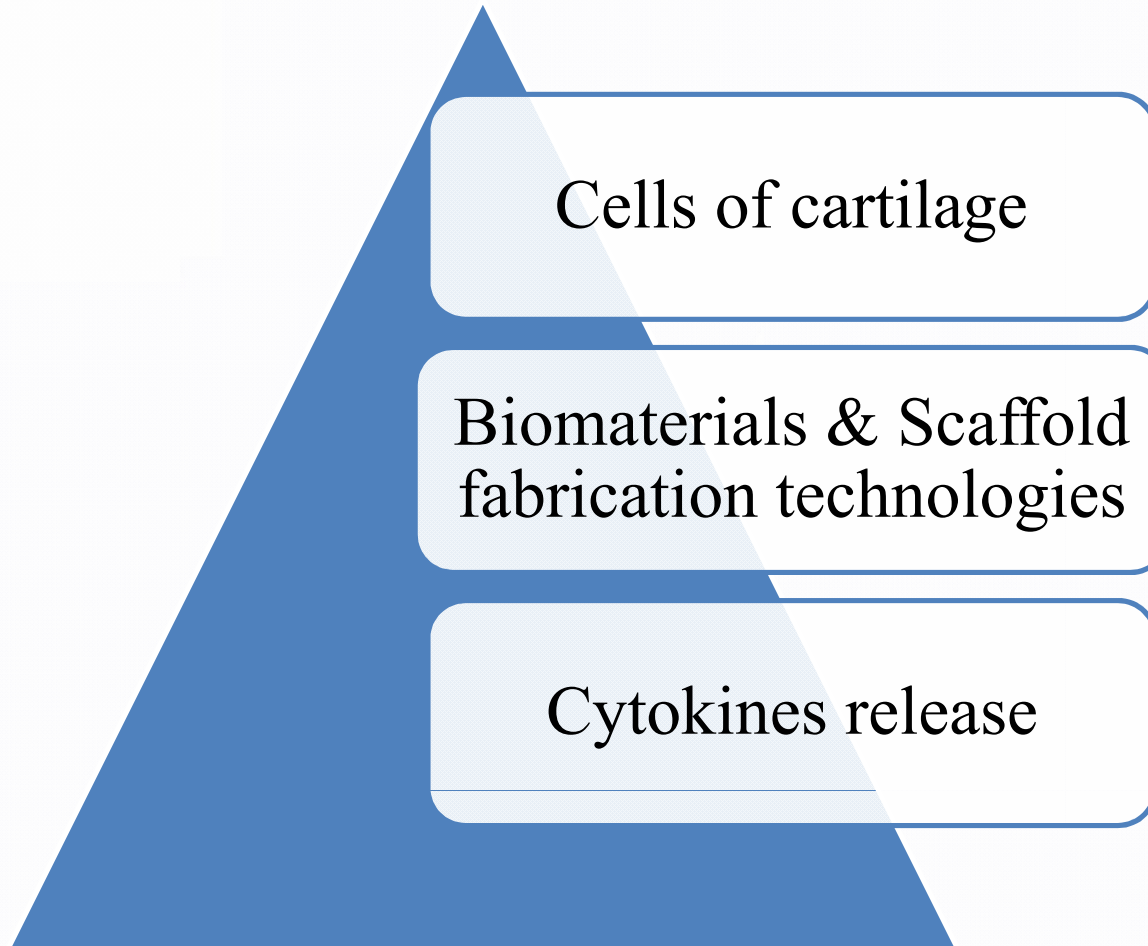
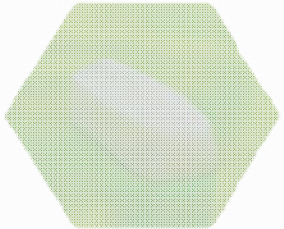
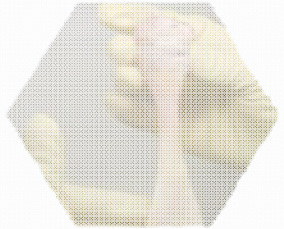
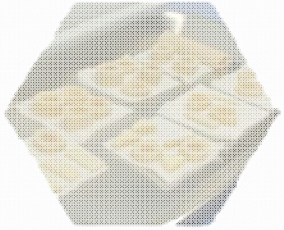
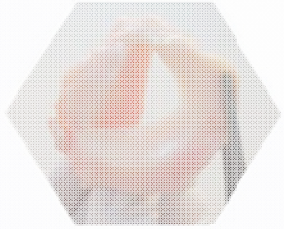
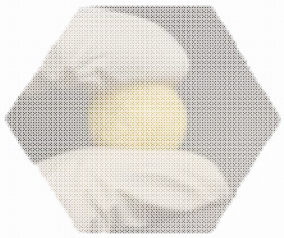
Current articular cartilage treatment algorithm. ACI = autologous chondrocyte implantation, MACI = matrix-assisted autologous chondrocyte implantation, TJR = total joint replacement. Reprinted with permission from Williams et al. (2010)

□ دوام ۱۵ ساله یا بیشتر درمان عالی برای بیماران

□ عمل مجدد تقریباً بیماران ۲۰٪ بیماران درمان شده به پس از این مدت

یک راه حل زیستی برای ترمیم غضروف آسیب دیده می تواند
رهایی از درد را برای تمام عمر فرد به ارمغان بیاورد.





Cells of cartilage tissue engineering



❖ انتخاب مسلم سلول برای ترمیم غضروف: کندروسیت از غضروف هیالین



❖ سلول های بنیادی از منابع مختلف: Embryonic SC/IPS/ BM-MSCs

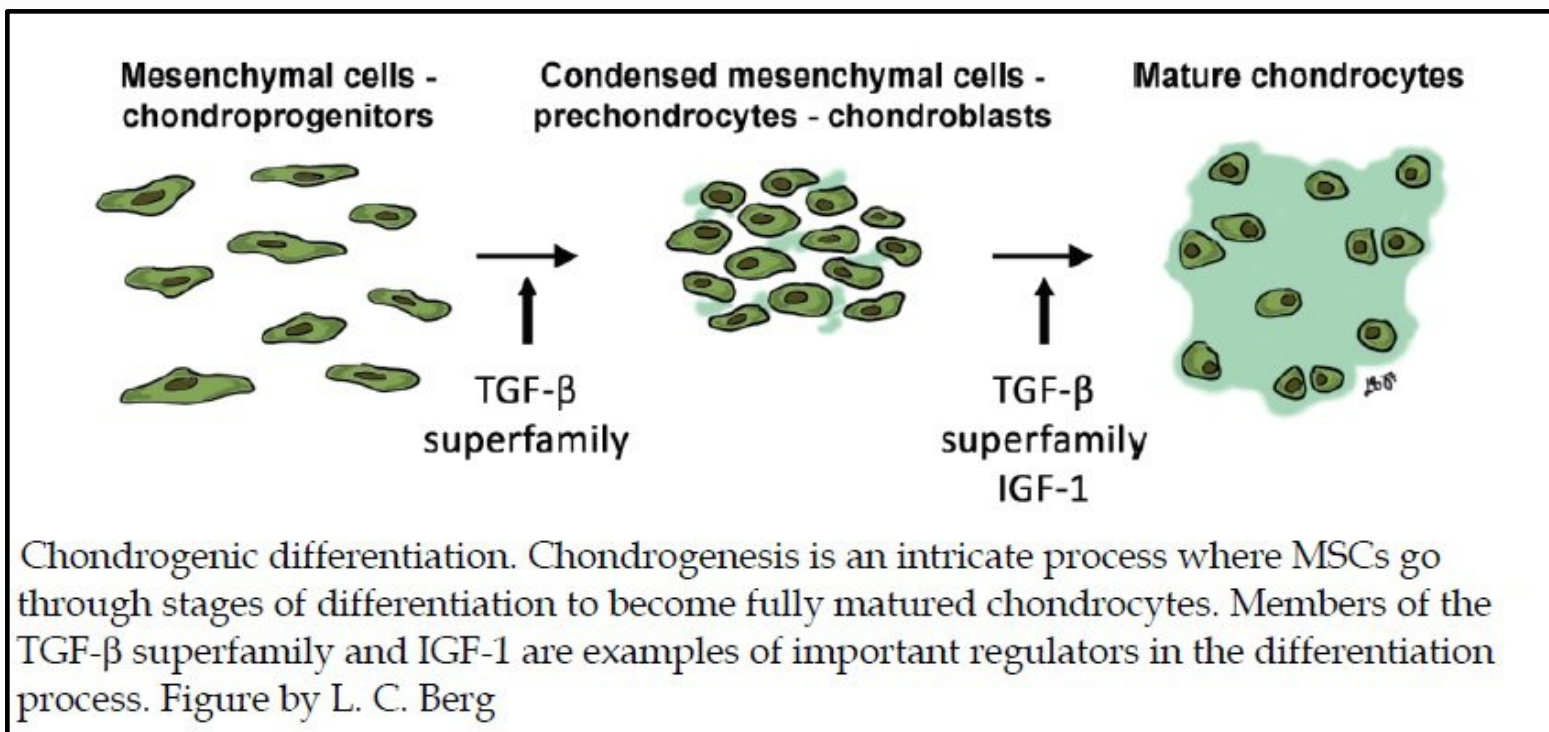
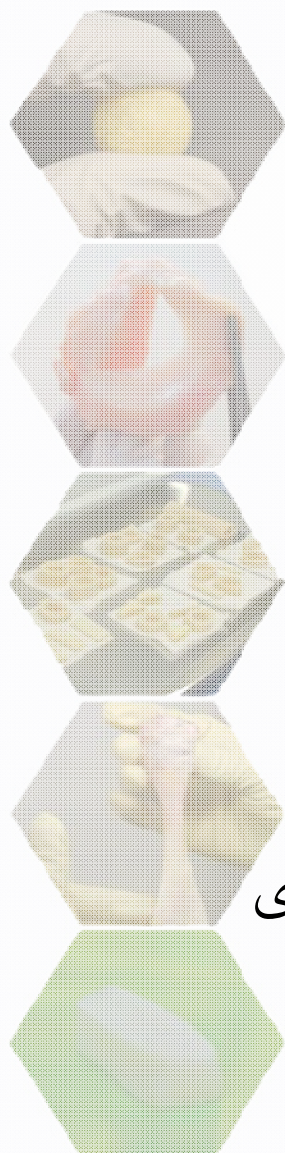


chondrogenesis: فرآیند تمایز MSC ها به سلول های بالغ کندروسیت

مشکل استفاده از کندروسیت های اتولوگ: نیاز به ۲ جراحی (یکی برای

برداشت سلول و دیگری برای جایگزینی)





بزرگ ترین محدود کننده مهندسی بافت به علت منع توسعه و تجدید پذیری
طبق پروتکل های پیش بینی شده برای تولید غضروف



Biomaterials & Scaffold fabrication technologies

Hydrogels

Solid polymers
(PLA/PGA/PLGA)

Scaffold fabrication
technologies
RP(CAM,CAD)

این بیومتریال ها توسط
FDA تایید شده اند

Cytokines release

```
graph TD; A[Cytokines release] --> B[Growth factors]; A --> C[Delivery methods]; B --> D[Transforming growth factor-β superfamily]; B --> E[Insulin-like growth factor]; C --> F[Direct attachment]; C --> G[incorporation]
```

Growth factors

Delivery methods

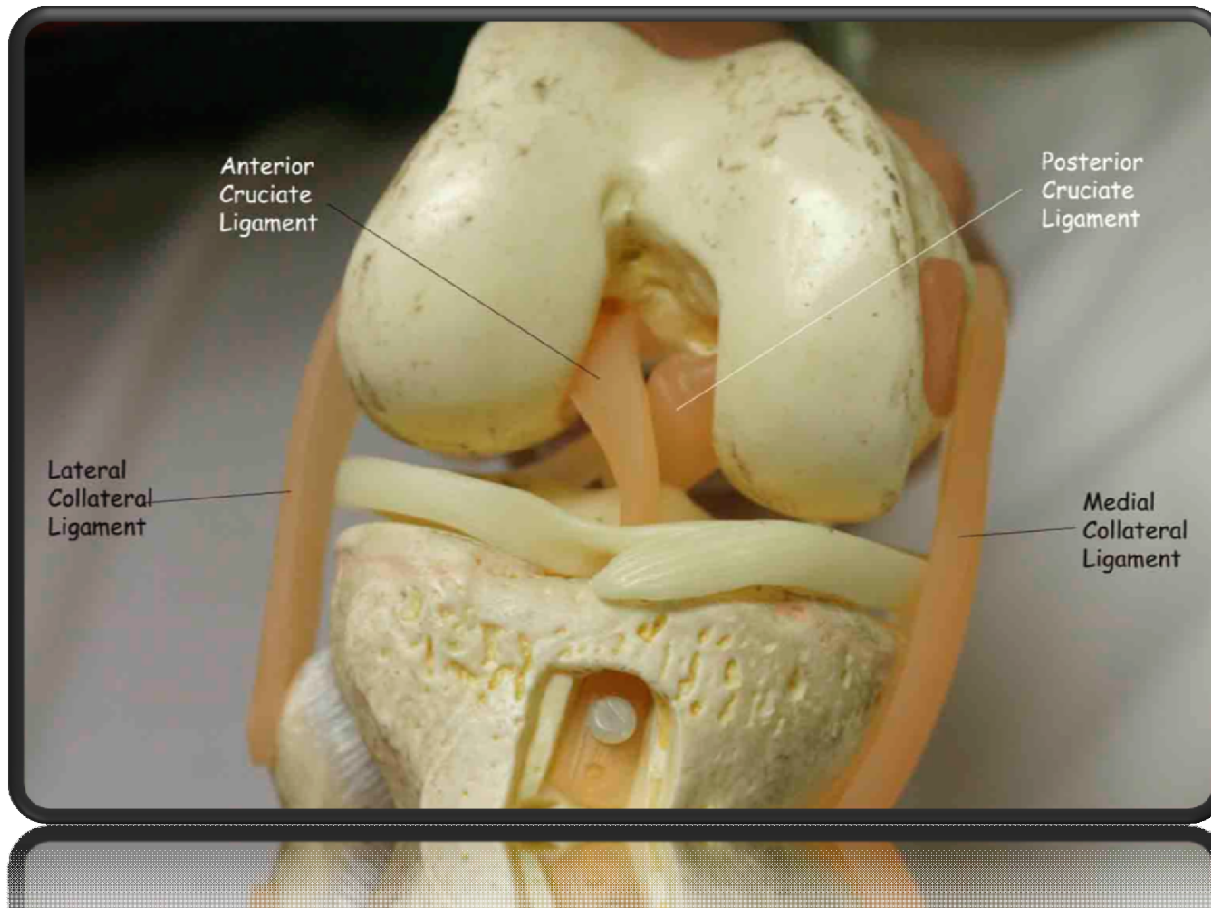
Transforming growth factor- β superfamily

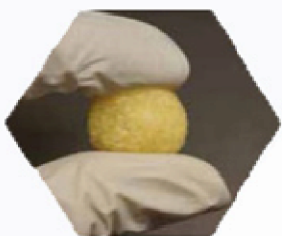
Insulin-like growth factor

Direct attachment

incorporation

Ligaments Regeneration





❑ نقش اصلی لیگامنت : ارتباط بین دو استخوان از طریق مفصل



❑ وقوع بیشترین موارد پارگی لیگامان در مفصل زانو



❑ درگیری ۹۰ درصدی از آسیبهای لیگامنت زانو در رباط صلیبی قدامی



(ACL) و رباط طرفی داخلی (MCL)

❑ توانایی بهبود خودبه خودی MCL و عدم وجود آن در ACL به علت



عروق ضعیف

❑ گرچه روش های کنونی درمان می تواند به احیا لیگامنت ها در برخی

بیماران منجر شود ، اما نتایج طولانی مدت آن رضایت بخش نیست.

Suitable cell types

❑ ترجیح فیبروبلاست و سلول های بنیادی مزانشیمی (MSC) برای بذر

افشانی داربست در مهندسی بافت

❑ MSC: بیان بالای کلاژن تیپ I و III

فیبروبلاست های ACL: نقش مهم در ترمیم بافت

❑ کشت هم زمان MSC با فیبروبلاست لیگامان سبب تمایز مناسب

MSC ها به لیگامان می شود. این نتیجه گیری بر اساس بیان mRNA

از ژن های کلیدی لیگامنت (کلاژن I و کلاژن III و tenascin-c) می

باشد.

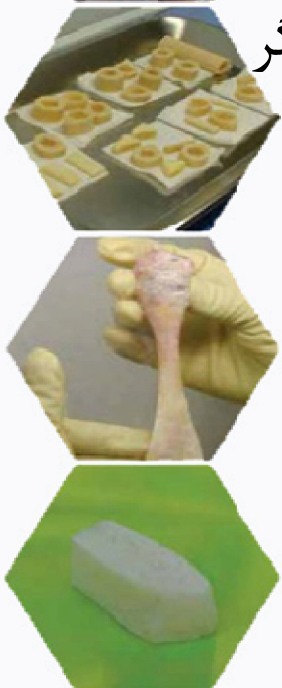
Suitable biomaterials



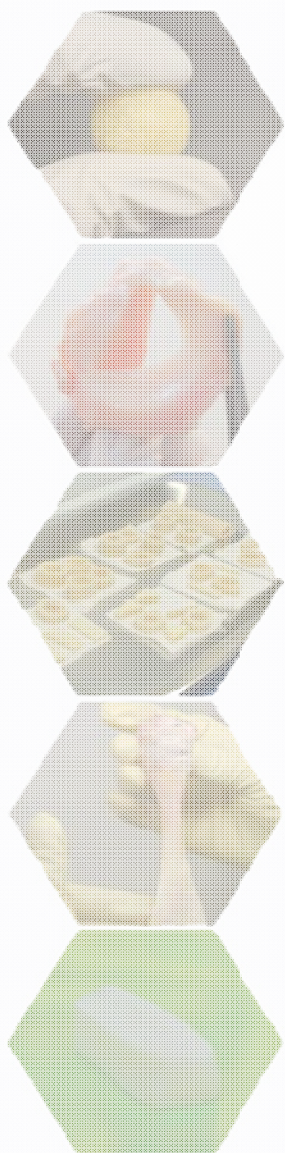
مواد مختلف زیادی در مهندسی بافت شناخته شده اند که شامل پلیمرهای

ساختگی، پلیمرهای طبیعی، silk، glasses، هیدروژل و کامپوزیت و مواد دیگر

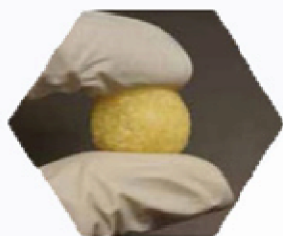
می شوند.



Material	Physical form	Affect on cells/material properties	Author
Synthetic polymers			
PLAGA	Braided	Improved fibroblast attachment, spreading & growth.	(Cooper, Lu et al. 2005)
PLAGA	Electrospun PLAGA nano-fibres onto knitted PLAGA scaffold.	Improved porcine MSC attachment & proliferation. Cells gave higher expression of type I collagen, decorin and biglycan genes in comparison to cells on just a knitted PLAGA scaffold.	(Sahoo, Ouyang et al. 2006)
PGA coated with BioGlass	Mesh coated with Bioglass.	Increased fibroblast proliferation (208f cell line).	(Day, Boccaccini et al. 2004)
PLA, PGA, PLAGA coated with fibronectin	Braided	Enhanced rabbit ACL fibroblast adhesion and supported high cell numbers, (highest for PLA).	(Lu, Cooper et al. 2005)
Degrapol[®] PU	Fibre-fleece	Supported fibroblast adhesion & proliferation.	(Milleret, Simonet et al. 2009)



Natural polymers				
Collagen hydrogel	Hydrogel + collagen fibres	Increased production of type I & III collagen fibres, giving better tissue formation, and ligament-like organization in the tissue.	(Noth, Schupp et al. 2005; Gentleman, Livesay et al. 2006)	
Silk fibroin	Rope matrix	Enhanced ligament- specific differentiation of human MSC's.	(Wang, Kim et al. 2006)	
Silk fibroin	Microporous silk mesh rolled around braided silk cord	MSC seeded construct was implanted into pigs. At 24 weeks MSC's differentiated into fibroblast-like cells, expressing collagen I and III, tenascin-c.	(Fan, Liu et al. 2009)	
Silk fibroin	Microporous silk sponge incorporated into knitted silk mesh	Rabbit MSC seeded constructs implanted into rabbits. At 24 weeks cells were well distributed throughout the regenerating ACL, producing key ligament proteins (coll I & III, Tenascin-c), direct ligament -bone insertion with 4 zones was reconstructed resembling native ACL-bone insertion.	(Fan, Liu et al. 2008)	



Silk fibroin	Silk fibroin electrospun onto knitted silk base (random/aligned)	Aligned fibres showed improved cell proliferation and collagen production compared to random orientation.	(Teh, Goh et al. 2008)
Composites			
Gelatin + silk fibroin	Microporous sponge around Silk cables	Co-cultured rabbit MSC + ACL fibroblasts on the scaffold allowing MSC differentiation into ligament fibroblasts (mRNA expression of Coll 1 & 3, Tenascin-c and corresponding protein production).	(Fan, Liu et al. 2008)
Glass			
Phosphate-based glass	Disks	Increased adhesion & proliferation of fibroblasts when CaO content was 46-48 mol%.	(Bitar, Salih et al. 2004)
Phosphate-based glass	Fibres	Increased adhesion & proliferation of fibroblasts when CaO content was 46mol%.	(Bitar, Knowles et al. 2005)
Bioactive glass	Disks	Supported rabbit MSC adherence and proliferation.	(Meseguer-Olmo, Bernabeu-Esclapez et al. 2008)
Collagen fibres	Braided/plied (cross-linked)	Implanted into goats, analysed over 11 months post implantation, concluded they were losing strength, therefore not suitable as ACL substitute.	(Chvapil, Speer et al. 1993)

Some of the various different materials previously used as scaffolds (for ligament tissue engineering) their physical forms, and their suitability for cell cultures

Response of cells to chemical stimuli invitro

استفاده از فاکتورهای رشد مختلف از قبیل bFGF/PDGF/TGF- β_1 /EGF/IGF برای تشویق رشد سلول ها به تکثیر، تمایز یا افزایش تولید کلاژن

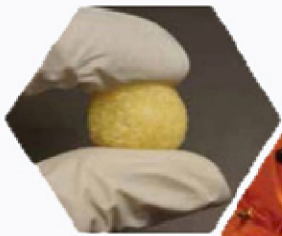
مطالعات invitro نشان داده است که:

❖ استفاده از bFGF/PDGF/EGF یا TGF- β_1 به تنهایی موجب افزایش

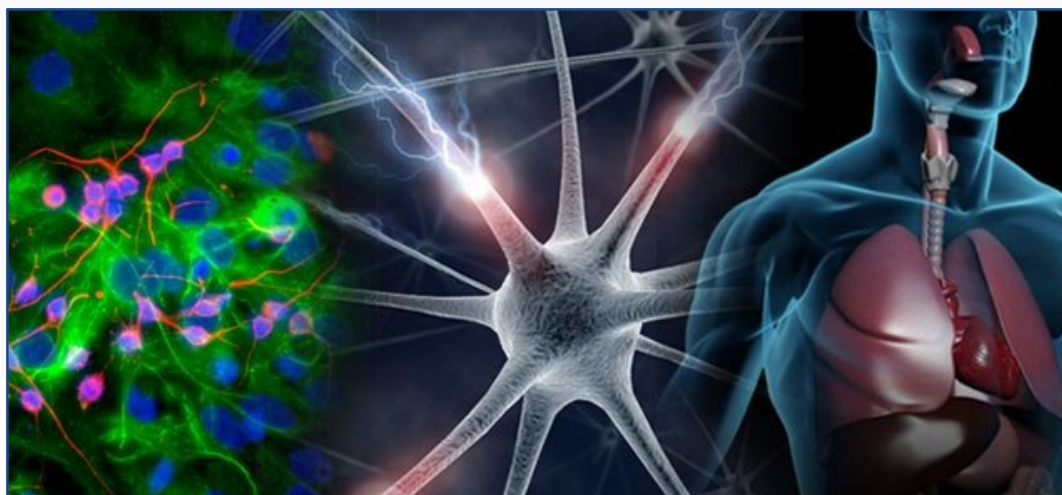
تکثیر فیبروبلاست های ACL

❖ ترکیب TGF با bFGF یا EGF سبب افزایش تمایز MSC به فیبروبلاست

Conclusion



مهندسی بافت هنوز در مراحل اولیه قرار دارد، اما چشم انداز امیدوار کننده ای برای آن پیش بینی می شود. بازساخت اعضا با تولید بافت با ساختار و مشخصات بیومکانیکی درست قادر است بر محدودیت های پیوند اتوگرافت و آلوگرافت غلبه کند و امیدواریم نتایج بلند مدت بهتری داشته باشد. [۳]





References

- 1) Glausiusz J. The Big Idea: Organ Regeneration: National Geographic magazine 2011. Available from:
<http://ngm.nationalgeographic.com/2011/03/big-idea/organ-regeneration-text>
- 2) Smit, F. E. and P. M. Dohmen (2015). "Cardiovascular tissue engineering: where we come from and where are we now?" Medical science monitor basic research **21**: 1.
- 3) Eberli, D. (2011). "Tissue engineering for tissue and organ regeneration." Croatia: Intech.
- 4) Yannas, I. V. (2001). Tissue and organ regeneration in adults, Springer Science & Business Media.
- 5) Yannas, I. V. (2013). "Emerging rules for inducing organ regeneration." Biomaterials **34(2)**: 321-330.
- 6) Basu, J. and J. W. Ludlow (2013). Organ Regeneration: Methods and Protocols, Humana Press.
- 7) Khademhosseini, L. Z. a. T. W. a. A. (2014). "Tissue and Organ Regeneration - Advances in Micro- and Nanotechnology " PanStanford publishing.



- 8) contributors O. CH391L/S13. OpenWetWare. 2013.
- 9) de Vries, R. B., et al. (2008). "Ethical aspects of tissue engineering: a review." Tissue Engineering Part B: Reviews **14**(4): 367-375.
- 10) BERSENEV A. 20 bioprinting companies to watch: stem cell assays 2014. Available from: <http://stemcellassays.com/2014/07/2bioprinting-companies/>.



Thanks for your attention

Questions & Ask

